

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAGING BUAH  
SIRSAK (*Annona muricata* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus*,  
*Streptococcus pneumoniae*, *Shigella sonnei* DAN *Pseudomonas*  
*aeruginosa* BESERTA PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS**

**NASKAH PUBLIKASI**



**Oleh :**

**HANUGRAH ARDYA CRISDIAN SARASWATI  
K 100 090 028**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA  
SURAKARTA  
2013**

**PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAGING BUAH  
SIRSAK (*Annona muricata* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus*,  
*Streptococcus pneumoniae*, *Shigella sonnei* DAN *Pseudomonas*  
*aeruginosa* BESERTA PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS**

Oleh :  
**HANUGRAH ARDYA CRISDIAN SARASWATI**  
K100 090 028

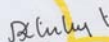
Telah disetujui dan disahkan pada :

Hari : Jumat  
Tanggal : 11 Oktober 2013

Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Muhammadiyah Surakarta  
Dekan,

Arifah Sri Wahyuni, M.Sc., Apt

Penguji I



Ika Trisharyanti DK, M.Farm., Apt

Penguji II



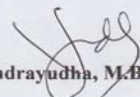
Rima Munawaroh, M.Sc., Apt

Pembimbing Utama



Dr. Haryoto, M.Sc

Pembimbing Pendamping



Peni Indrayudha, M.Biotech., Apt

Mahasiswa



Hanugrah Ardy Crisdian Saraswati

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAGING BUAH  
SIRSAK (*Annona muricata* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus*,  
*Streptococcus pneumoniae*, *Shigella sonnei* DAN *Pseudomonas aeruginosa*  
BESERTA PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS**

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ETHANOLIC EXTRACT OF  
SOURSOP (*Annona muricata* L.) AGAINST *Staphylococcus aureus*,  
*Streptococcus pneumoniae*, *Shigella sonnei* AND *Pseudomonas aeruginosa*  
WITH THIN LAYER CHROMATOGRAPHY PROFILE**

**Hanugrah Ardy CS, Haryoto dan Peni Indrayudha**  
Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta,  
Jl A. Yani Tromol Pos I, Pabelan Kartasura Surakarta 57102  
Email: [dee\\_ardya@yahoo.com](mailto:dee_ardya@yahoo.com)

**ABSTRAK**

Buah sirsak (*Annona muricata* L.) menjadi obat herbal di banyak negara dan sekarang menyebar luas di seluruh bagian tropis dan subtropis dari belahan dunia ini. *A. muricata* telah digunakan dalam pengobatan alami di daerah tropis termasuk kulit kayu, daun, akar dan biji. Ekstrak etanol daun sirsak mempunyai aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumonia* dan *Bacillus subtilis*. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daging buah sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus pneumonia* melalui metode dilusi padat serta mengetahui senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak etanol daging buah sirsak (*Annona muricata* L.) yang berpotensi sebagai antibakteri. Daging buah sirsak di maserasi dengan etanol 96% sehingga diperoleh ekstrak etanol daging buah sirsak. Ekstrak di ujikan terhadap bakteri dengan metode dilusi padat dengan parameter Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Analisis kualitatif dilanjutkan dengan kromatografi lapis tipis dengan mendeteksi senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri. Hasil penelitian aktivitas antibakteri menunjukkan terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus pneumoniae* sampai kadar 5% untuk keempat bakteri tidak memiliki nilai KHM maupun KBM. Golongan senyawa yang terdeteksi dalam kromatografi lapis tipis adalah terpenoid dengan Rf 0,8.

**Kata Kunci :** *Annona muricata* L., Antibakteri, Kromatografi Lapis Tipis, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus pneumoniae*

### ABSTRACT

*Soursop (Annona muricata L.) using in herbal medicine in many contries and now widespread throughout the tropical and subtropical parts of the world. A.muricata has been used in natural medicine in the tropics, including the bark, leaves, roots and seeds. Soursop leaf ethanol extract has antibacterial activity Staphylococcus aureus, Proteus vulgaris, Klebsiella pneumoniae and Bacillus subtilis. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of ethanol extract of the fruit soursop (Annona muricata L.) against Pseudomonas aeruginosa bacterium, Shigella sonnei, Staphylococcus aureus and Streptococcus pneumonia through dilution method and determine the chemical compounds contained in the ethanol extract of the fruit of soursop (Annona muricata L.) as a potential antibacterial. Soursop fruit pulp maceration with ethanol in 96% ethanol extract of soursop fruit. Test against bacterial extract in the solid dilution method with parameter Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimal Bactericidal Concentration (MBC). Qualitative analysis followed by thin layer chromatography to detect potential as an antibacterial compound. The results showed antibacterial activity against bacteria Pseudomonas aeruginosa, Shigella sonnei, Staphylococcus aureus and Streptococcus pneumoniae to levels of 5% for the four bacteria do not have MIC and MBC values. Class of compounds in thin-layer chromatography detection is terpenoids with Rf 0.8.*

**Keywords :** *Annona muricata L., Antibacterial, Thin Layer Chromatography, Pseudomonas aeruginosa, Shigella sonnei, Staphylococcus aureus and Streptococcus pneumoniae*

### PENDAHULUAN

WHO pada tahun 2008 mencatat bahwa 68% penduduk dunia masih menggantungkan sistem pengobatan tradisional yang mayoritas melibatkan tumbuhan untuk menyembuhkan penyakit dan lebih dari 80% penduduk dunia menggunakan obat herbal untuk mendukung kesehatan mereka (Saifudin, 2011). Indonesia merupakan salah satu negara pengguna tumbuhan terbesar di dunia bersama negara lain di Asia seperti Cina dan India. Hal ini sangat erat kaitannya dengan kekayaan sumber alam yang dimiliki dan keragaman budaya yang terpelihara sampai saat ini. Kekayaan alam hutan tropis Indonesia memiliki banyak tumbuhan berkhasiat untuk obat contohnya *Annona muricata* (Hidayat, 2005).

*Annona muricata* menjadi obat herbal di banyak negara dan sekarang menyebar luas di seluruh bagian tropis dan subtropis dari belahan dunia ini salah satunya dari wilayah Amerika yang beriklim tropis, terutama Amerika Tengah dan

Selatan telah menyebar luas ke Asia yaitu Thailand, Malaysia dan Indonesia.. Seluruh bagian dari pohon *A. muricata* telah digunakan dalam pengobatan alami di daerah tropis termasuk kulit kayu, daun, akar dan biji. Umumnya jus buah digunakan untuk melawan cacing dan parasit, meningkatkan ASI setelah melahirkan, mengatasi diare serta disentri. Serbuk dari biji buah *Annona muricata* sebagai *vermifuge*, dan *anthelmintik* terhadap parasit internal atau eksternal dan cacing. Kulit kayu, daun dan akar dianggap sebagai obat penenang, antispasmodik, hipoglikemik, hipotensi dan relaksan (Adewole *and* Martins, 2006).

Setiap 100 g buah yang dapat dimakan mengandung vitamin B 0,07 mg, vitamin C 20 mg, sukrosa 2,54%, dekstrosa 5,05% dan levulosa 0,04% (Sukarmin, 2010). Daging buah sirsak mengandung 114 senyawa volatil yang terdiri atas 44 ester, 25 terpen, 10 alkohol, 9 aldehid dan keton, 7 senyawa aromatik, 5 hidrokarbon, 3 asam, 3 lakton dan 8 senyawa lainnya (Gajalakshmi *et al.*, 2012). Kandungan utama dari daging buah sirsak yang belum matang adalah ester (Z)-3-Hexen-1-ol, sedangkan pada buah matangnya kandungan utamanya adalah methyl (E)-2-hexanoat dan methyl (E)-2-butanoate (Iwaoka *and* Zhang, 1993).

Ekstrak air buah sirsak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio cholera* dalam konsentrasi 1:5 dan 1:10 (Vieira, 2010). Ekstrak etanol daun sirsak mempunyai aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Bacillus subtilis* (Prachi, 2010). Ekstrak biji *Annona muricata* dapat digunakan sebagai antiinsektisida terutama untuk mengendalikan *Sitophilus zeamais* (Asmanizar, 2012). Ekstrak kloroform dari biji sirsak mempunyai aktivitas antilarva yaitu dapat menghambat pertumbuhan larva dengan  $LC_{50}$  0,9005  $\mu\text{g/mL}$  dan  $LC_{90}$  6,1776  $\mu\text{g/mL}$ , selain itu ekstrak etil asetat biji sirsak mempunyai aktivitas sitotoksik dan antilesminal lebih tinggi daripada ekstrak heksan dan metanol (Jaramilo *et al.*, 2000).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daging buah sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus pneumoniae* serta mengetahui golongan senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat**

Alat-alat yang digunakan antara lain berupa alat gelas (Pyrex), alat timbang (Ohaus), *blender* (Philips), corong *Buchner* (Stuart), *vacuum rotary evaporator* (Heidolph), penangas air, lampu spiritus (Bunsen), mikropipet (Socorex), *autoclave* (My Life), *shaker incubator* (New Brunswick), oven (Memmert), *Laminar Air Flow* (Astari Niagara), inkubator (Memmert), mikroskop (Olympus), seperangkat alat KLT.

### **Bahan**

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus pneumoniae* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, buah sirsak (*Annona muricata* L.) diperoleh dari desa Giribangun Karanganyar, cat Gram A, cat Gram B, cat Gram C, cat Gram D, BHI (*Brain Heart Infusion*) standar Mc. Farland  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml, media Mueller Hinton (MH), plat KLT, pereaksi semprot antara lain sitroborat dan Liebermann Burchard (LB), *Kligler Iron Agar* (KIA) (Oxoid), *Lysine Iron Agar* (LIA) (Oxoid), *Motility Indole Ornithine* (MIO) (Oxoid), *Manitol Salt Agar* (MSA) (Oxoid), CMC Na 0,25%, NaCl 0,9% steril.

### **Jalannya Penelitian**

#### **Ekstraksi**

Simplisia dari daging buah sirsak yang telah diserbukkan ditimbang sebanyak 2000 g, kemudian ditempatkan dalam bejana *stainless steel* untuk maserasi. Serbuk direndam dalam etanol 96% sebanyak 17 liter sampai simplisia terendam semua, selama 2 hari sambil sesekali diaduk, kemudian hasil maserasi disaring dengan kain flannel bersih sehingga didapatkan filtrat etanol dan ampas. Filtrat etanol dipekatkan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental daging buah sirsak.

### Uji Aktivitas Antibakteri

Media Mueller Hinton (MH) yang telah disterilkan dan ditambah larutan ekstrak, dengan volume total masing-masing tabung sebanyak 4 mL, kemudian dikocok hingga benar-benar homogen, dan dipadatkan dalam posisi miring sehingga diperoleh konsentrasi akhir untuk bakteri Gram positif 1% b/v; 2% b/v; 3% b/v; 4% b/v dan 5% b/v sedangkan untuk bakteri Gram negatif dengan konsentrasi 2,5% b/v; 3,125% b/v; 3,75% b/v; 4,375% b/v; 5% b/v. KHM (Kadar Hambat Minimal) konsentrasi terkecil yang tidak ditumbuhi bakteri diamati dengan uji pada tabung yang tidak ditumbuhi bakteri sedangkan KBM (Kadar Bunuh Minimal) konsentrasi terkecil yang mampu membunuh bakteri diamati dengan media yang tidak ditumbuhi bakteri digores kembali dan diamati kadar terendah yang tidak ditumbuhi bakteri.

### Kromatografi Lapis Tipis

Sebanyak 2 µl larutan sampel yang telah dilarutkan dengan methanol ditotolkan pada fase diam berupa plat silika GF<sub>254</sub> dan dielusi dengan fase gerak n-heksan: Etil asetat: Asam asetat glasial (3:16:1) v/v. Pemisahan diamati dengan lampu UV<sub>254</sub> nm dan UV<sub>366</sub> nm serta dengan pereaksi semprot anisaldehyd-asam sulfat pekat, sitroborat, FeCl<sub>3</sub>, dan Dragendorff.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Ekstraksi

Metode penyarian yang digunakan adalah maserasi. Metode ini banyak digunakan karena selain tekniknya sederhana, zat yang mengandung gugus-gugus yang tidak tahan terhadap panas atau mudah menguap tidak akan rusak atau menguap karena berlangsung pada kondisi dingin (Suarsa *et al.*, 2011). Etanol 96% merupakan suatu campuran hidroalkohol yang merupakan kombinasi antara pelarut polar dan nonpolar sehingga memungkinkan terjadinya kombinasi yang fleksibel untuk dapat menyari berbagai macam senyawa kimia dari simplisia (Ansel, 1989). Proses maserasi dilakukan di dalam bejana tertutup dan terhindar dari cahaya agar senyawa-senyawa hasil dari maserasi tidak mengalami oksidasi. Selama proses maserasi perlu dilakukan pengadukan untuk menjaga

keseimbangan konsentrasi larutan di dalam maupun di luar sel (Depkes RI, 1986). Sisa air dari maserat dihilangkan dengan *waterbath* pada suhu  $<60^{\circ}\text{C}$  untuk mencegah terurainya kandungan senyawa kimia pada ekstrak. Dari berat awal simplisia 2 kg diperoleh ekstrak dengan berat 526,67 g, sehingga rendemen yang dihasilkan adalah 26,33%.

### Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daging buah sirsak terhadap *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Shigella sonnei* dan *Pseudomonas aeruginosa* dilakukan dengan metode dilusi padat. Parameter yang diamati dalam uji ini adalah KHM dan KBM. KHM adalah konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan KBM adalah konsentrasi terendah yang dapat membunuh bakteri. Pengamatan hasil uji KHM menggunakan 3 kontrol, yaitu kontrol media, kontrol pertumbuhan, dan kontrol *suspending agent* (CMC 0,25%). Kontrol media digunakan untuk mengetahui sterilitas media yang digunakan. Kontrol pertumbuhan digunakan untuk mengetahui apakah bakteri dapat tumbuh baik pada media atau tidak. Sedangkan kontrol *suspending agent* digunakan untuk memastikan bahwa *suspending agent* yang digunakan tidak memiliki potensi sebagai antibakteri.

Menurut Mitscher *et al.* (1972) *cit* Astuti *et al.* (2002) ekstrak dikatakan aktif sebagai antibakteri apabila dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan konsentrasi  $\leq 1000\text{ }\mu\text{g/mL}$  ( $\leq 0,1\%$  b/v). Hasil penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daging buah sirsak terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *shigella sonnei* sampai dengan konsentrasi 5% tidak memiliki daya antibakteri KHM maupun KBM dan untuk bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus pneumoniae* dengan konsentrasi 5% juga tidak memiliki daya antibakteri KHM maupun KBM. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daging buah sirsak tidak memiliki daya antibakteri dan tidak berpotensi sebagai antibakteri.

Menurut Pratiwi (2008) suatu antibakteri dapat beraksi dengan cara menghambat sintesis metabolit-metabolit penting pada bakteri. Hasil yang diperoleh ekstrak etanol daging buah sirsak tidak memiliki aktivitas antibakteri



hal ini mungkin disebabkan karena kandungan buah sirsak yang sedikit memiliki metabolit sekunder yang baik untuk aktivitas antibakteri seperti yang dimiliki daun, akar dan kulit batang. Kemungkinan yang lain senyawa yang beraktivitas sebagai antibakteri tidak tersari dengan sempurna dalam pelarut etanol dan lebih tersari dalam pelarut semi polar sehingga kandungan yang bersifat antibakteri dalam ekstrak etanol tidak ada. Dibandingkan dengan ekstrak etil asetat daging buah sirsak yang memiliki aktivitas antibakteri pada kadar hambat minimal untuk bakteri *shigella sonnei* 0,4%, *Pseudomonas aeruginosa* 0,8% dan *Staphylococcus aureus* 0,4% dan untuk senyawa yang terkandung dalam ekstrak etil yang bertindak sebagai antibakteri alkaloid dan flavonoid (Ariani, 2013).

### Kromatografi Lapis Tipis

Metode kromatografi Lapis Tipis (KLT) digunakan untuk deteksi kualitatif dengan memisahkan senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak berdasarkan perbedaan polaritas. Metode ini merupakan metode yang banyak digunakan untuk mengidentifikasi senyawa dalam preparasi obat karena pengerjaannya singkat dan sederhana (Wagner & Bladt, 1996).

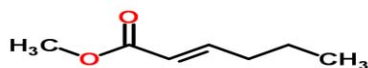
Pertama kali dilakukan optimasi fase gerak untuk mendapat kombinasi fase gerak yang mampu memisahkan senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak secara optimum dari optimasi pertama menggunakan fase gerak n-heksan:kloroform:alkohol (11:3:6) akan tetapi tidak terjadi pemisahan yang baik fase gerak ini alkohol polar sehingga fase gerak diubah dengan menggunakan fase gerak yaitu n-heksan: etil asetat: asam asetat glasial dengan perbandingan (3 : 16 : 1) v/v.

**Tabel 1. Hasil Uji KLT ekstrak etanol daging buah sirsak**

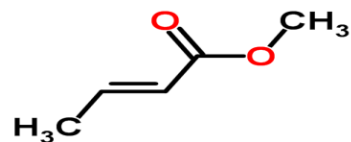
hRf	Deteksi	Hasil	Keterangan	Literatur (Wagner&Bladt,1996)
0	Sitroborat (UV 366)	Biru gelap	Flavonoid (-)	Kuning
0	Dragendorff (sinar tampak)	Tanpa warna	Alkaloid (-)	Coklat Tua
80	Anisaldehyd-asam sulfat pekat (sinar tampak)	Biru	Terpenoid (+)	Biru
0	FeCl <sub>3</sub> (sinar tampak)	Tanpa warna	Fenol (-)	Biru tua

Pendeteksian golongan senyawa metabolit sekunder menggunakan sinar UV (254 dan 366 nm) dan menggunakan pereaksi semprot yang spesifik (Tabel 1). Sinar UV digunakan untuk mendeteksi senyawa-senyawa yang memiliki gugus kromofor (Gandjar dan Rohman, 2007). Sitroborat digunakan untuk mendeteksi golongan senyawa flavonoid, jika positif maka terdapat bercak berflourosensi kuning pada UV 366 nm. Pereaksi dragendrof digunakan untuk mendeteksi golongan senyawa alkaloid jika positif akan memberikan bercak coklat tua pada sinar tampak. Pereaksi anisaldehyd- $\text{H}_2\text{SO}_4$  digunakan untuk mendeteksi golongan senyawa turunan terpenoid termasuk saponin jika positif akan memberikan bercak biru pada sinar tampak. Sedangkan Pereaksi  $\text{FeCl}_3$  digunakan untuk mendeteksi golongan senyawa fenolik jika positif akan memberikan bercak biru tua pada sinar tampak (Wagner & Bladt, 1996).

Kandungan Sirsak yang belum matang Ester (Z)-3-Hexen-1-ol sedangkan pada buah matangnya kandungan utamanya adalah methyl (E)-2-hexanoat dan methyl (E)-2-butanoate. Ketiga senyawa tersebut merupakan kelompok senyawa volatile Ester (Z)-3-Hexen-1-ol merupakan golongan alkohol, methyl (E)-2-hexanoat merupakan golongan ester dan methyl (E)-2-butanoate termasuk asam karboksilat unsaturated (Ronald Ross *and* Victor, 2009)



methyl (E)-2-hexanoat



methyl (E)-2-butanoate

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Ekstrak etanol daging buah sirsak tidak memiliki aktivitas antibakteri hingga konsentrasi 5% terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei*,

*Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus pneumoniae* melalui metode dilusi padat. Ekstrak etanol daging buah sirsak terdeteksi adanya senyawa terpenoid.

### Saran

Penelitian lebih lanjut untuk aktivitas biologi yang lain seperti antilarvasida, antifungi atau antioksidan.

### DAFTAR ACUAN

- Ariani, E.E., 2013, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daging Buah Sirsak (*Annona muricata* L) Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei*, dan *Staphylococcus aureus* Beserta Bioautografinya, *Skripsi*, Surakarta, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Ansel, H. C., 1989, *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, diterjemahkan oleh Ibrahim, F., Edisi IV, 616-617, Indonesia Press, Jakarta.
- Adewole, S. O., Martins, E.A.C., 2006, Morphological Changes and Hypoglycemic Effects of *Annona muricata* Linn (*Annonaceae*) leaf Aqueous Extract on Panceatic B-cells of Streptozotocin Treated Diabetic Rats, *African Journal of Biomedical Research*, Vol.9 : 173-187
- Asmanizar, Djamin, A., Idris, A.B., 2012, Evaluation of *Jatropha Curcas* and *Annona muricata* Seed Crude Extracts Against Sitophilus Zeamais Infesting Stored Rice, *Journal of Entomology* 9 (1) : 13- 22
- Depkes RI, 1986, *Sediaan Galemik*, 2-3, Jakarta, Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Gajalakshmi, S., Vijayalakshmi, S., Rajeswari, D., 2012, *Phytochemical and Pharmacological properties of Annona muricata*, *Int J Pharm Sci*, 4 (2),3-6
- Hidayat, S., 2005, *Ramuan Tradisional Ala 12 Etnis Indonesia*, Penebar Swadaya, Jakarta
- Iwaoka, W. T. and Zhang, X., 1993, *Identifying Volatiles in Sour soup and Comparing their Changing Profiles During Ripening*, *Hort Science*, 28 (8) : 817-819
- Jaramilo, M.C., Arango, G.J., Gonzales, M.C., Robledo, M.S., and Vales, I.D., 2000, Cytotoxicity and antileishmanial activity of *Annona muricata* L., *Fitoterapia*, 71(2), 183-186.

- Mitscher, L. A., Leu, R. P., Bathala, M. S., Wu, W. & Beal J. L., 1972, Antimicrobial Agents from Higher Plants. I. Introduction, Rationale, and Methodology, *Lloydia*, 35 (2), 157-166, *cit*, Astuti, P., Pratiwi, S. U. T., Hertiani, T., Alam, G., Tahir, A. & Wahyuono, S., 2002, Marine sponge *Jaspis* sp., A Potential Bioactive Natural Source Against Infectious Diseases, *Berkala Ilmu kedokteran*, 34 (3).
- Prachi, P., 2010, *In Vitro* Antimicrobial an Phytochemical Analysis of the Leaves *Annona muricata*, *International Journal of Pharma Research and Development*, 5: 1-6
- Pratiwi, S. T., 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, 188-189, Penerbit Airlangga, Jakarta.
- Ronald Ross Watson and Victor R.Preedy., 2009, Bioactive Foods in Promoting Health: Fruits and Vegetables, 633, Amsterdam
- Saifudin, A., Rahayu, V., dan Teruna, HY., 2011, *Standarisasi Obat Alam*, Graha Ilmu, Yogyakarta.
- Suarsa, Suarya & Kurniawati, I., 2011, Optimasi Jenis Pelarut Dalam Ekstraksi Zat Warna Alam dari Batang Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L. Cv Kepok) dan Batang Pisang Susu (*Musa paradisiaca* L. Cv Susu), *Jurnal Kimia*, 5 (1), 72-80.
- Sukarmin, 2010, *Teknik Uji Daya Pertumbuhan Dua Spesies Annona*, Buletin Teknik Pertanian, 15 (1): 13-15.
- Wagner, H., Bladt, S., 1996, *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*, Second Ed., 350, Springer, New York.